

0007410152

WPI Acc no: 1996-017139/199602

XRAM Acc no: C1996-005521

**Eczema and dermatitis treating agent - comprises 1-alpha, 24(R)-dihydroxy
cholecalciferol**

Patent Assignee: TEIJIN LTD (TEIJ)

Inventor: KATAYAMA I; MAKINO Y; SATO H; TADAKI Y; UOZUMI M

Patent Family (2 patents, 1 countries)							
Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Update	Type
JP 7291868	A	19951107	JP 199542984	A	19950302	199602	B
JP 3839502	B2	20061101	JP 199542984	A	19950302	200672	E

Priority Applications (no., kind, date): JP 199433623 A 19940303

Patent Details						
Patent Number	Kind	Lan	Pgs	Draw	Filing Notes	
JP 7291868	A	JA	15	2		
JP 3839502	B2	JA	21		Previously issued patent	JP 07291868

Alerting Abstract JP A

Eczema and dermatitis treating agent comprises 1-alpha-24(R)- dihydroxycholecalciferol.

USE - The agent is effective for the treatment of eczema and dermatitis.

USE - Typical examples of eczema and dermatitis are pref. atopic dermatitis, e.g. prurigo type atopic dermatitis; acute or chronic eczema; seborrhoeic eczema; prurigo, e.g. atopic dermatitis type prurigo; contact dermatitis, nummular eczema, autosensitisation dermatitis, lichen simplex chronicus Vidal, dishidrotic eczema, desquamative dermatitis, solar dermatitis, diaper dermatitis, nerve dermatitis, housewife's eczema and sebum deficiency eczema. The agent is pref. in the form of external medicine, e.g. ointment, cream, lotion or tape; injection; oral agent or transnasal agent. The external medicine is pref. ointment consisting of (a) 1-alpha, 24(R)-dihydroxycholecalciferol, (b) one or more than two hydrophobic and anhydrous solvent(s) selected from fatty acid ester gp., higher alcohol gp. and propylene carbonate, and (c) one or a mixt. of more than two lipophilic bases selected from white vaseline, yellow vaseline, liquid paraffin, and polyethylene gel of liquid paraffin; and the amt. of hydrophobic and anhydrous solvent in the ointment is 0.01-25.0 wt.%, and fatty acid ester gp. is one or a mixt. of more than two selected from isopropyl adipate, decyl oleate, diethyl sebacate, isopropyl myristate, triacetin, tricaproic acid glycerol ester, tricapric acid glycerol ester, tricaprylic acid glycerol ester, trilauric acid glycerol ester, trilinolic acid glycerol ester, dicaprylic acid propylene glycol ester, diplargonic acid propylene glycol ester and dicapric acid propylene glycol ester; and high alcohol gp. is one or a mixt. of more than two selected from octyldecanol cetylalcohol and oleyl alcohol. The external medicine is pref. cream consisting of (a) 1 alpha 24(R)-dihydroxycholecalciferol, (b) oily phase of (i) solid oily substance of 5-20 pts. wt. of white vaseline and 5-15 pts.wt. of higher alcohol gp., and (ii) liquid oily substance of 3-10 pts.wt. of squalane, (c) water phase, and (d) 2.5-7.5 pts.wt. of more than two

surfactants; and the wt. ratio of solid oily substance and liquid oily substance is more than 2, and higher alcohol gp. consists of stearyl alcohol and cetyl alcohol, and the wt. ratio of stearyl alcohol and higher alcohol is 0.65-0.9.

USE - In an example, TPA (12-)-Tetradecanoylphorbol-13-acetate) was applied to the neck of hair-less mice to promote the proliferation of epidermal cells. The activity of a alpha, 24(R)-dihydroxy-cholecalciferol (1 alpha, 24(R)-(OH)2D3), against proliferated epidermal cells, was measured on the basis of ODC activity and DNA synthesis. The results shows that the epidermal ODC activity which was increased by 15 times by application of TPA was inhibited by 0.1 micron g/head of 1 alpha, 24(R)-(OH)2D3, and when 1.0 micro g/head was applied, ODC activity was inhibited to 27% of TPA single application gp. DNA synthesis of epidermal cells was promoted by twice by application of TPA, but, the amt. of 10 micro g/head of 1 alpha,24(R)-(OH)2D3 inhibited DNA synthesis significantly (58% of single application of TPA gp.).

Title Terms /Index Terms/Additional Words: ECZEMA; DERMATITIS; TREAT; AGENT; COMPRISE; ALPHA; DI; HYDROXY; CHOLECALCIFEROL

Class Codes

International Patent Classification					
IPC	Class Level	Scope	Position	Status	Version Date
A61K-0031/59	A	I	L	R	20060101
A61K-0009/06	A	I	F	R	20060101
A61P-0017/00	A	I	L	R	20060101
A61P-0029/00	A	I	L	R	20060101
A61P-0043/00	A	I	L	R	20060101
A61K-0031/593	A	I	F	B	20060101
A61K-0009/06	A	I	L	B	20060101
A61P-0017/04	A	I	L	B	20060101
A61P-0017/08	A	I	L	B	20060101
A61K-0031/59	C	I	L	R	20060101
A61K-0009/06	C	I	F	R	20060101
A61P-0017/00	C	I	L	R	20060101
A61P-0029/00	C	I	L	R	20060101
A61P-0043/00	C	I	L	R	20060101
A61K-0031/59	C	I	F	B	20060101
A61P-0017/00	C	I	L	B	20060101

File Segment:

CPI

DWPI Class: B01; B05

Manual Codes (CPI/A-N): B03-G; B14-N17C

Original Publication Data by Authority

Japan

Publication No. JP 7291868 A (Update 199602 B)

Publication Date: 19951107

THERAPEUTIC AGENT FOR ECZEMA AND DERMATITIS

Assignee: TEIJIN LTD (TEIJ)

Inventor: MAKINO YUJI

SATO HIROAKI

UOZUMI MINEO

TADAKI YUKIHIRO

KATAYAMA ICHIRO

Language: JA (15 pages, 2 drawings)

Application: JP 199542984 A 19950302 (Local application)

Priority: JP 199433623 A 19940303

Original IPC: A61K-31/59(A) A61K-9/06(B)

Current IPC: A61K-31/59(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) A61K-

31/59(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) A61K-

9/06(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,F) A61K-9/06(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,F)

A61P-17/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) A61P-

17/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) A61P-

29/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) A61P-

29/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) A61P-

43/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) A61P-

43/00(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L)

Publication No. JP 3839502 B2 (Update 200672 E)

Publication Date: 20061101

Language: JA (21 pages)

Application: JP 199542984 A 19950302 (Local application)

Priority: JP 199433623 A 19940303

Related Publication: JP 07291868 A (Previously issued patent)

Original IPC: A61K-31/59(B,I,H,98,20060101,20061012,C,F) A61K-

31/593(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,F) A61K-

9/06(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L) A61P-17/00(B,I,H,98,20060101,20061012,C,L)

A61P-17/04(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L) A61P-

17/08(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L)

Current IPC: A61K-31/59(B,I,H,98,20060101,20061012,C,F) A61K-

31/593(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,F) A61K-

9/06(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L) A61P-17/00(B,I,H,98,20060101,20061012,C,L)
A61P-17/04(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L) A61P-
17/08(B,I,H,JP,20060101,20061012,A,L)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-291868

(43) 公開日 平成7年(1995)11月7日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/59	ADA			
	ABE			
	ADS			
9/06	V			
	K			

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願平7-42984	(71) 出願人	000003001 帝人株式会社 大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号
(22) 出願日	平成7年(1995)3月2日	(72) 発明者	牧野 悠治 東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人 株式会社東京研究センター内
(31) 優先権主張番号	特願平6-33623	(72) 発明者	佐藤 裕明 東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人 株式会社東京研究センター内
(32) 優先日	平6(1994)3月3日	(72) 発明者	魚住 峰男 東京都千代田区内幸町2丁目1番1号 帝 人株式会社内
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 前田 純博

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 湿疹・皮膚炎群治療剤

(57) 【要約】

【目的】 新規な湿疹・皮膚炎群治療剤を提供する。

【構成】 1 α , 24 (R) - ジヒドロキシコレカルシ
フェロールを主成分とする湿疹・皮膚炎群治療
剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分として含有する湿疹・皮膚炎群治療剤。

【請求項2】 湿疹・皮膚炎群が、アトピー性皮膚炎である請求項1記載の治療剤。

【請求項3】 アトピー性皮膚炎が、痒疹型アトピー性皮膚炎である請求項2記載の治療剤。

【請求項4】 湿疹・皮膚炎群が、急性又は慢性湿疹である請求項1記載の治療剤。

【請求項5】 湿疹・皮膚炎群が、脂漏性皮膚炎である請求項1記載の治療剤。

【請求項6】 湿疹・皮膚炎群が、痒疹である請求項1記載の治療剤。

【請求項7】 痒疹が、アトピー性皮膚炎性痒疹である請求項6記載の治療剤。

【請求項8】 湿疹・皮膚炎群が接触性皮膚炎、貨幣状湿疹、自家感作性皮膚炎、ビダール苔癬、異汗症性皮膚炎、剥離性皮膚炎、日光皮膚炎、口囲皮膚炎、おむつ皮膚炎、神経皮膚炎、主婦湿疹、及び皮脂欠乏性湿疹からなる群から選ばれる一種又は二種以上の疾患である、請求項1項記載の治療剤。

【請求項9】 剤形が外用剤、注射剤、経口剤、経鼻剤からなる群から選ばれるいずれかの剤形である請求項1～8のいずれか1項記載の湿疹・皮膚炎群治療剤。

【請求項10】 外用剤が軟膏剤、クリーム剤、ローション剤又はテープ剤である請求項9項記載の湿疹・皮膚炎群治療剤。

【請求項11】 外用剤が、(a) 主薬としての1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールと、

(b) 1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールを溶解する脂肪酸エステル類、高級アルコール類及び炭酸プロペンからなる群から選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である疎水性・無水性の溶剤と、

(c) 白色ワセリン、黄色ワセリン、流動パラフィン及び流動パラフィンのポリエチレンゲルから選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である親油性基剤とからなる軟膏剤であって、該疎水性・無水性の溶剤の量が、該軟膏剤の0.01～25.0重量%であり、該脂肪酸エステル類が、アジピン酸ジイソプロピル、オレイン酸デシル、セバシン酸ジエチル、ミリスチン酸イソプロピル、トリアセチン、トリカブロン酸グリセリン、トリカプリル酸グリセリン、トリカプリン酸グリセリン、トリラウリン酸グリセリン、トリリノール酸グリセリン、ジカプリル酸プロピレングリコール、ジペラルゴン酸プロピレングリコール、ジカプリン酸プロピレングリコールからなる群から選ばれた一種又は二種以上の混合物であり、該高級アルコール類がオクチルドデカノール、セチルアルコール、オレイルアルコールからなる群から選ばれた一種又は二種以上の混合物である軟膏剤である請求項9

項記載の湿疹・皮膚炎群治療剤。

【請求項12】 外用剤が(a) 主薬としての1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールと、

(b) (ア) 5～20重量部の白色ワセリン、5～15重量部の高級アルコール類からなる固形油分、及び

(イ) 3～10重量部のスクワランからなる液状油分とからなる油相成分と、(c) 水相成分、及び(d) 2.5～7.5重量部の2種以上からなる界面活性剤とからなる1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールクリーム剤であって、該固形油分と該液状油分との重量比(該固形油分/該液状油分)が約2以上であり、該高級アルコール類がステアリルアルコール及びセチルアルコールとからなり、該ステアリルアルコールと該高級アルコール類との重量比(該ステアリルアルコール/該高級アルコール類)が約0.65～約0.9であるクリーム剤である請求項9項記載の湿疹・皮膚炎群治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規な湿疹・皮膚炎群治療剤に関する。更に詳しくは、本発明は1α, 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分として含有する新規な湿疹・皮膚炎群治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 湿疹・皮膚炎群は、湿疹・皮膚炎型反応(eczematous dermatitic reactions)を示す炎症性皮膚症(inflammatory dermatoses)であり、表皮に海綿状態(spongiosis)化、(表皮)肥厚不全角化、(表皮内)炎症細胞の浸潤等が認められる皮膚疾患を一括した呼称である。臨床的には、紅斑、丘疹、水疱、膿疱、結痂、鱗屑などの新旧の小病巣が混在し、掻痒を呈し、急性・亜急性・慢性の経過をとり、慢性化すると苔癬化を示すことが多い。

【0003】 湿疹・皮膚炎群の分類については、普遍的な病理形態学的統一性はなく、因襲的概念が色濃いとされており、(斉藤脩「臨床医と病理医のための皮膚病理学」シュプリンガー・フェアラーク東京刊、1992年、94頁～)、若干の概念の重複を避けられないが、通常使用されているものを列挙すると急性、亜急性、又は慢性の湿疹、接触性皮膚炎、貨幣状湿疹、自家感作性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、ビダール苔癬、異汗症性皮膚炎、剥離性皮膚炎、日光皮膚炎、口囲皮膚炎、おむつ皮膚炎、神経皮膚炎、脂漏性皮膚炎、主婦湿疹、皮脂欠乏性湿疹等があげられる。

【0004】 これらの疾患の発症は例えばアトピー性皮膚炎の如く近年増加しつつあるが、その原因については多くの物理的・化学的因子やアレルギー機序が考えられているものの明らかでないものが多い。

【0005】これらの疾患の薬物療法には炎症性疾患であるため従来抗炎症剤が使用されており、例えばプロピオン酸クロベタゾール、酢酸ジフロラゾンジフルブレドナート、プロピオン酸デキサメタゾン等の副腎皮質ホルモン（ステロイド）剤や、イブプロフェンピコノール、ウフェナアート、グルチルレチン酸、クロタミトン、スピロフェン等の非ステロイド系薬剤が主に外用剤として使用されている。

【0006】しかし、これらの薬物療法が十分なものではないのが現状である。即ち、ステロイド系薬剤については、その対症療法的な有効性は認められているものの、副作用あるいは一時休止後の再発時の症状悪化など（リバウンド現象）が広く知られている。

【0007】上記の副作用としては皮膚の感染症、過敏症、下垂体・副腎皮質系機能の抑制、ステロイド褥瘡、眼瞼皮膚への使用による眼圧亢進、緑内障、後嚢白内障等があげられ、眼科については使用が禁じられているものが多い。又、顔面、首等の疾患部位は該部位の皮膚の薬物の吸収性が高いためステロイド系薬剤の全身の副作用が発症しやすく、該部位へのステロイド系薬剤の塗布は極力避けられている。一方非ステロイド系薬剤については、ステロイド系薬剤と比較して有効性が低い、塗布部位にかぶれが生じやすい、眼科には使用できないものが多い等の欠点があり、治療薬としては不十分といえよう。

【0008】上記のような副作用、使用上の懸念等がある上に湿疹・皮膚炎群疾患が特に乳児、幼児、小児や女性あるいは他疾患併発者等の比較的皮膚が敏感な患者に多いことがこのような薬剤を一層使用しにくくしている。従って、湿疹・皮膚炎群疾患に対し有効で安全であり、前述の湿疹・皮膚炎群疾患の複数が複合的に発症しているか、併発的に発症している湿疹・皮膚炎群患者や、他疾患併発の湿疹・皮膚炎群患者に対しても有効で安全であり、例えば顔面などの薬物吸収性の高い部位にも使用できる、使用しやすい薬剤が強く望まれている。

【0009】ところで、 $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールは活性型ビタミン D_3 類に属する化合物である。 1α -ヒドロキシコレカルシフェロール、 $1\alpha, 24$ -ジヒドロキシコレカルシフェロール、 $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールなどの活性型ビタミン D_3 類は、生体内のカルシウムレベルを調節する作用を有し、骨粗鬆症、骨軟化症などのいわゆる骨減少症に有用であることが知られている〔ベーシック・リサーチ・アンド・イツ・クリニカル・アプリケーション (Basic Research and its clinical Application)、1099~1106 (1979)〕。

【0010】一方、近年において活性型ビタミン D_3 類の新たな薬理作用、例えば増殖抑制作用、分化誘導作用等が見いだされ、骨減少症以外の他の患者の治療剤とし

ての可能性が検討されている。例えば、関節リウマチ治療剤（特開昭56-26820号公報）、癌細胞の分化誘導剤（特開昭57-149224号公報）等への活性型ビタミン D_3 類の適用が検討されている。

【0011】本発明者らは既に、上記状況に鑑み、活性型ビタミン D_3 類の新たな治療剤としての可能性について研究した結果、 $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールが皮膚疾患の一種である乾癬の治療剤として有効であること、更には $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを乾癬治療剤として使用する場合には、特定の溶剤と特定の親油性基剤からなる軟膏剤が特に好適であること等を見出し、既に、 $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分として含有し、剤形が $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを溶解する脂肪酸エステル類、高級アルコール類及び炭酸プロピレンからなる群から選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である疎水性または無水性の溶剤と、白色ワセリン、黄色ワセリン、流動パラフィン及び流動パラフィンのポリエチレングルから選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である親油性基剤とからなる軟膏剤であって、該疎水性または無水性の溶剤の量が、該軟膏剤の0.01~25.0重量%である乾癬治療剤を提案した。（特公平3-68009号公報参照）。

【0012】上記の乾癬は組織学的には表皮層で表皮細胞の浸潤が認められるが、真皮層には異常な変化はないとされている。一方、湿疹・皮膚炎群疾患は表皮層では上記乾癬と同じ変化が認められる他に、真皮層でも好中球、リンパ球、単球等の浸潤、血管拡張浮腫、血管新生、弾性線維の消失、抗原呈示細胞の増加が認められ、その点で乾癬とは異なる病態である。

【0013】湿疹・皮膚炎群への活性型ビタミン D_3 類の適用については従来報告はほとんどなく、唯一EP-A-0129003号明細書で 1α -ヒドロキシコレカルシフェロールあるいは $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを含有する外用剤が開示され、湿疹、乾癬、皮膚炎、乾皮症等への効果が示されている。

【0014】しかしながら、EP-A-0129003号に開示されている 1α -ヒドロキシコレカルシフェロールは、活性型である $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールの前駆体であり、そのためその活性型ビタミン D_3 作用（分化誘導、増殖抑制作用等）は弱く、皮膚局所疾患の湿疹・皮膚炎群の治療には実際には適当ではないと考えられるのである。即ち、 1α -ヒドロキシコレカルシフェロールを疾患部位の皮膚局所に塗布しても、皮膚中には活性型ビタミン D_3 である $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールへの転換酵素である 25 -ヒドロキシラーゼが少なく、局所で薬効を呈する活性型ビタミン D_3 への転換は望めない。又、経口投与等により 1α -ヒドロキシコレカルシフェロールを全

身的に投与し、肝臓で活性型である $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールに転換させることが出来るが、その場合疾患部位の皮膚局所に分布される $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロール量は極めて少なく、その薬効は多くは期待出来ないと考えられる。

【0015】また、EPA0129003号に開示されている $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールは、その後の研究によって、その局所投与（外用）により高Ca尿症が発生することが報告されている（例えば第7回ビタミンDワークショッププロシーディング、Walter de Gruyter社、ベルリン、ニューヨーク、1988年刊、A. Langnerらの報告）。すなわち、同剤の安全性に疑問が投げかけられているのが現状である。

【0016】すなわち本発明の目的は、新規な $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分として湿疹・皮膚炎群治療剤を提供することにある。

【0017】また、本発明の目的は、その有効性、安全性に優れた新規な湿疹・皮膚炎群治療剤を提供することにある。

【0018】更に本発明の目的は、その有効性、安全性に優れ、かつ副作用又はリバウンド現象等の低減化された、新規な湿疹・皮膚炎群治療剤を提供することにある。

【0019】また更に、本発明の目的は、その有効性、安全性に優れ、また副作用又はリバウンド現象等が低減化され、かつ、顔面等にも使用できる使用し易い剤形である、新規な湿疹・皮膚炎群治療剤を提供することにある。

【0020】本発明者らはこのような従来技術及び湿疹・皮膚炎群への活性型ビタミンD₃類の薬理効果、臨床効果及び安全性を鋭意検討した結果、 $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールが湿疹・皮膚炎群に対して優れた薬理作用及び治療効果等を有することを初めて見出し、且つ 1α -ヒドロキシコレカルシフェロール、 $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロール等の活性型ビタミンD₃類と比べて $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールが、有効性、安全性等の点でより優れていることを見出して本発明に至った。

【0021】

【課題を解決するための手段】しかして、本発明は $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分として含有する湿疹・皮膚炎群治療剤である。

【0022】 $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールは公知の化合物であり、例えばジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・ケミカル・ソサエティー (J. Amer. Chem. Soc.), 95, 2748 (1973); ケミカル・ファーマコロジカル・ブレイク (Chem. Pharm. Bull.), 21, 2

568 (1978); 米国特許第4022891号明細書等に記載された方法により容易に合成し得るものである。また本発明の $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールとして、安定性に優れている点でその結晶状態にあるもの、例えば特公平3-59063号公報に記載されている $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールの1水塩を用いることも好ましい。

【0023】本発明の湿疹・皮膚炎群とは、例えば急性、亜急性、又は慢性の、湿疹、接触性皮膚炎、貨幣状湿疹、自家感作性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、ピダール苔癬、異汗症性皮膚炎、剥離性皮膚炎、日光皮膚炎、口囲皮膚炎、おむつ皮膚炎、神経皮膚炎、脂漏性皮膚炎、主婦湿疹、及び皮脂欠乏性湿疹等からなる表皮に海綿状態化、（表皮）肥厚、不全角化、（表皮内）炎症細胞の浸潤等が認められる炎症性皮膚症等や、例えば腎透析や老人性乾皮症等の各種疾患に伴うそう痒症等をあげることができる。

【0024】これらのなかでも、本発明の湿疹・皮膚炎群としては、急性、亜急性、又は慢性の、湿疹、アトピー性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、痒疹、ピダール苔癬、接触性皮膚炎、前記各種疾患に伴うそう痒症が好ましく、なかでも急性、亜急性又は慢性の湿疹（好ましくは急性・慢性湿疹、なかでも慢性湿疹）、脂漏性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、痒疹、又はそう痒症を特に好ましいものとしてあげることができる。

【0025】なお、本発明の湿疹・皮膚炎群のうち、例えばアトピー性皮膚炎においては、痒疹に見られるような丘疹及び／又は著しいそう痒を伴う痒疹型アトピー性皮膚炎も含まれるが、このような痒疹型アトピー性皮膚炎も好ましいものとして挙げられる。

【0026】また、同様にアトピー性皮膚炎症状を繰り返しているうちに発症すると言われるアトピー性皮膚炎性痒疹、結節性痒疹、又は亜急性痒疹も好ましいものとして挙げられる。これらのなかでもアトピー性皮膚炎性痒疹をより好ましいものとして挙げられる。

【0027】本発明の $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールを湿疹・皮膚炎群の治療に利用する時は、 $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールは局所的あるいは全身的に投与される。局所的には外用剤として、軟膏・クリーム等の半固型剤、ローション等の液剤、あるいはテープ剤の剤型で皮膚の疾患部位に直接投与される。一方全身的には注射剤、経口剤、経鼻剤等として血管内、組織内、胃腸管、粘膜等へ水性注射剤、油性注射剤、錠剤、顆粒剤、液剤、カプセル剤、ソフトカプセル剤、経鼻液剤、経鼻粉剤等の剤型で投与される。

【0028】かかる全身投与の場合、これらの剤型への製剤化方法については、原則としては通常の方法に従うものであるが、 $1\alpha, 24$ (R)-ジヒドロキシコレカ

ルシフェロールの投与量が少なく、且つ、物理化学的にも不安定であることから、水性注射剤としては特開平2-80317号に開示した方法、錠剤としては特公昭63-60007号に開示した方法、あるいは特開平2-229115号に開示した方法等により好適に製剤化される。

【0029】上記の如く全身的にも投与されるものであるが、疾患部位の局所濃度がより高い方がより有効であることから、皮膚疾患部位に局所的に投与した方が有利である。外用剤でもその処方によって、安全性、治療効果等が異なり得るのが、例えば本発明者らが乾癬治療軟膏剤として提案した（特公平3-68009号公報）軟膏剤、あるいは乳剤性組成物として別個提案した（特願平5-217261号明細書、国際出願PCT/JP94/01443号明細書）クリーム剤は、他の処方より治療効果等に優れており、有用である。

【0030】即ち、軟膏剤としては、(a) 主薬としての1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールと、(b) 1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールを溶解する脂肪酸エステル類、高級アルコール類及び炭酸プロピレンからなる群から選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である疎水性・無水性の溶剤と、(c) 白色ワセリン、黄色ワセリン、流動パラフィン及び流動パラフィンのポリエチレングルから選ばれる一種あるいは二種以上の混合物である親油性基剤とからなる軟膏剤であって、該疎水性・無水性の溶剤の量が、該軟膏剤の0.01~25.0重量%であり、該脂肪酸エステル類が、アジピン酸ジイソプロピル、オレイン酸デシル、セバシン酸ジエチル、ミリスチン酸イソプロピル、トリアセチン、トリカブロン酸グリセリン、トリカプリル酸グリセリン、トリカプリン酸グリセリン、トリラウリン酸グリセリン、トリリノール酸グリセリン、ジカプリル酸プロピレングリコール、ジペラルゴン酸プロピレングリコール、ジカプリン酸プロピレングリコールからなる群から選ばれた一種又は二種以上の混合物であり、該高級アルコール類がオクチルドデカノール、セチルアルコール、オレイルアルコールからなる群から選ばれた一種又は二種以上の混合物である軟膏剤が有用である。

【0031】またクリーム剤としては、(a) 主薬としての1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールと、(b) (ア) 5~20重量部の白色ワセリンおよび5~15重量部の高級アルコール類からなる固形油分、及び(イ) 3~10重量部のスクワランからなる液状油分とからなる油相成分と、(C) 水相成分と、及び(d) 2.5~7.5重量部の2種以上からなる界面活性剤とを含んでなる1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールクリーム剤であって、該固形油分と該液状油分との重量比（該固形油分/該液状油分）が約2以上であり該高級アルコール類がステアリルアルコ-

ル及びセチルアルコールとからなり、該ステアリルアルコールと該高級アルコール類との重量比（該ステアリルアルコール/該高級アルコール類）が約0.65~約0.9であるクリーム剤が有用である。

【0032】本発明の湿疹・皮膚炎群の剤形が、例えば上記の軟膏剤であるとき、そのような軟膏剤は特公平3-68009号公報の記載に従って得ることができる。

【0033】具体的には、上記親油性基剤を単独で、あるいは2種以上を組み合わせ、これに疎水性・無水性の溶剤を添加した後処方して、あるいは基剤にあらかじめ主薬を溶解した疎水性・無水性の溶剤を添加した後処方して、軟膏剤とすることもできる。このような軟膏剤において、疎水性・無水性の溶剤の量は、より好ましくは、0.1~10.0重量%である。

【0034】また、本発明の湿疹・皮膚炎群治療剤の剤形が上記クリーム剤であるとき、このようなクリーム剤としては、例えば国際出願PCT/JP94/01443号明細書に記載されたものを好ましいものとして挙げることができる。

【0035】より具体的には、

(a) 主薬としての1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロール

(b) (ア) 5~20重量部の白色ワセリンおよび5~15重量部の高級アルコール類からなる固形油分および

(イ) 3~10重量部のスクワランからなる液状油分とからなる油相成分、

(c) 水相成分、及び

(d) 2.5~7.5重量部の2種以上からなる界面活性剤

とを含んでなる1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールクリーム剤であって、該固形油分と該液状油分との重量比（該固形油分/該液状油分）が約2以上であり、該高級アルコール類がステアリルアルコール及びセチルアルコールとからなり、該ステアリルアルコールと該高級アルコール類との重量比（該ステアリルアルコール/該高級アルコール類）が約0.65~約0.9であり、該界面活性剤の50重量%以上がHLB値が約5以下の1種以上の界面活性剤であり、該界面活性剤全体のHLB値は約8~約18であるクリーム剤が好ましいものである。

【0036】かかるクリーム剤の白色ワセリンは石油から得られる炭化水素類の混合物を脱色して精製したものであり、その規格については例えば日本薬局方に定められるものが使用される。なかでも、1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールの安定性にとっては純度の高いものが望ましく、例えば過酸化価が0.5以下のようなものが望ましい。また、高級アルコール類はセチルアルコールとステアリルアルコールとの混合物であり、混合物中のステアリルアルコールの全体に占める重量比は約0.65から約0.9である。なかでも好

ましくは約0.7～約0.9、特に好ましくは約0.70～約0.85の範囲を挙げることができる。セチルアルコール単品からステアリアルアルコールを徐々に増加させるに従って皮膚浸透性は増加傾向にあり、ステアリアルアルコールの重量比が約0.7をこえると急激に皮膚浸透性が増大しステアリアルアルコール単品で最大になるが、その比率が約0.9をこえるとエマルジョンとしての物理的安定性、特に加熱時の物理的安定性が劣化する傾向がある。

【0037】一般に市販されているセチルアルコールやステアリアルアルコールはそれぞれ純品でないものもある。例えば、セチルアルコールと称されていてもセチルアルコール約0.7とステアリアルアルコール約0.3の混合物もあり、さらにはセトステアリアルアルコールといわれるもののようにセチルアルコール約0.6～約0.3とステアリアルアルコール約0.4～約0.7の混合物もある。本発明のセチルアルコールとステアリアルアルコールとはそれぞれ純粋なものを指し、それらの混合比率はそれらを基に計算される。

【0038】また、かかるクリーム剤におけるスクワランは、例えば深海にすむサメ類の肝油から得られる炭化水素を還元して得られる飽和炭化水素であり、その規格については例えば化粧品原料基準に定められるものが使用される。

【0039】クリーム剤の油相成分には上述した白色ワセリン、高級アルコール類、スクワランの他に、他の固形油分、液状油分を添加してもよい。固形油分として固形パラフィンが挙げられ、その添加量は例えば物理的安定性が維持される範囲内であればよく、例えば固形油分の1/10重量部以下であることがクリーム剤として適度の硬度を維持できるので好ましい。液状油分としては中鎖脂肪酸トリグリセリド、アシピン酸ジイソプロピル、ミリスチン酸イソプロピル等のエステル類が挙げられる。これら液状油分の添加量は例えば1 α , 24

(R)ージヒドロキシコレカルシフェロールの皮膚浸透性が維持される範囲内であればよく、スクワランの3/10重量部以下であることが1 α , 24(R)ージヒドロキシコレカルシフェロールの良好な皮膚浸透性を維持できるので好ましい。

【0040】上記クリーム剤の界面活性剤は2種以上の界面活性剤からなり、それらの合計はクリーム剤全体の2.5～7.5重量部であるのが好ましい。更に好ましくは、この界面活性剤の50重量%以上はHLB値が約5以下の1種以上の界面活性剤であり、この界面活性剤全体のHLB値は約8～約18である。より好ましくは約8～約12である。

【0041】このような50重量%以上を構成するHLB値が約5以下の1種以上の界面活性剤としては、例えばソルビタンモノオレート、ソルビタンモノステアレート、ソルビタンセスキオレート、ソルビタントリオレ-

ト、グリセリルモノステアレート、グリセリルモノオレート、プロピレングリコールモノステアレート等からなる群から選ばれる1種以上の界面活性剤があげられる。残りの界面活性剤としては全体のHLB値が約8～約18、より好ましくは約8～約12となるようなものであれば特に限定されないが、例えばポリオキシエチレン(30あるいは40あるいは60)ソルビットテトラオレート、ポリオキシエチレン(60)硬化ヒマシ油、ソルビタンモノラウレート、ソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレン(10)モノラウレート、ポリオキシエチレン(23あるいは25あるいは30)セチルエーテル等からなる群から選ばれる1種以上の界面活性剤があげられる。

【0042】以上説明したようなクリーム剤は、例えば常法どおり主薬としての1 α , 24(R)ージヒドロキシコレカルシフェロールの必要量を油相成分に界面活性剤とともに加熱溶解し、乳化機中で加熱された水相成分と混合し、ついで乳化し均一な乳化物とし、冷却して製造することができる。かくして得られたクリーム剤は、1 α , 24(R)ージヒドロキシコレカルシフェロールの化学的安定性に優れ、しかも1 α , 24(R)ージヒドロキシコレカルシフェロールの皮膚浸透性が向上し、その結果十分な薬理効果を有し、同時に、物理的安定性及び塗布時のべとつき、ギラギラ感がない等のその感触に優れるという効果も備えた製剤である。

【0043】本発明の湿疹・皮膚炎群治療剤の剤形としては上述のような局所用製剤又は全身用製剤が挙げられるが、なかでも前述した各種の湿疹・皮膚炎群治療剤において、その剤形が例えば軟膏剤、クリーム剤、ローション剤またはテープ剤の組み合わせが好ましい。

【0044】なかでも本発明の湿疹・皮膚炎群治療剤において湿疹・皮膚炎群が急性亜急性、又は慢性の湿疹、前記のようなアトピー性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、前記のような痒疹、又はそう痒症等である場合に、その剤形がそれぞれ、例えば軟膏剤、クリーム剤、またはローション剤等の外用剤、なかでも前記のような特定の組成の軟膏剤又はクリーム剤である場合を、より好ましい組み合わせとしてあげることができる。

【0045】本発明の製剤中には、必要に応じて適当量の保存剤、酸化防止剤、吸収促進剤、保湿剤等を添加してもよい。保存剤としては例えばパラオキシ安息香酸エステル、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ホウ酸などが挙げられ、酸化防止剤としては例えばブチルヒドロキシアニソール、ジブチルヒドロキシルエンなどが挙げられる。吸収促進剤としては例えばアジピン酸ジイソプロピル、ジエチルセバケート、炭酸プロピレングリコー

ル、ソルビトールなどが挙げられる。

【0046】また、クリーム剤の油相成分には酸化防止剤を添加することができる。酸化防止剤としてはブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、 d 1- α -トコフェロール等が、より好適には d 1- α -トコフェロールが添加され、その添加量は通常0.001~5.0重量部であり、より好適には0.01~3.0重量部である。一方、水相成分には保湿剤、防腐剤、キレート剤、緩衝剤等を添加することができる。保湿剤としてはプロピレングリコール、グリセリン、ソルビトール等が挙げられ、その添加量は1~20重量部、より好適には2~15重量部である。防腐剤としてはメチルパラベン、プロピルパラベン、それらの混合物等のパラベン類；クロロブタノール；モノチオグリセロール；ソルビン酸、ソルビン酸カリウム；ベンジルアルコール等が挙げられ、その添加量は0.001~10.0重量部であり、より好適には0.01~5.0重量部である。キレート剤としてはクエン酸、クエン酸ナトリウム；エデト酸ナトリウム等が挙げられ、その添加量は0.001~5.0重量部であり、より好適には0.01~3.0重量部である。緩衝剤としてはリン酸水素2ナトリウム、リン酸2水素ナトリウム等が挙げられ、水相成分のpHを6.5~8.0に調節するのに必要な量比で添加される。

【0047】本発明に必要な $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールの量は治療有効必要量であり、投与方法にもよるため一概には決められないが、通常 $100\mu\text{g}$ から $0.01\mu\text{g}$ 、より好適には $20\mu\text{g}$ ~ $0.1\mu\text{g}$ /日であり、例えば錠剤の場合には1錠あたりにそれらの量を含有させれば良い。外用剤の場合、例えば、前記軟膏剤やクリーム剤における主薬としての $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールの量は、 $0.01\mu\text{g}$ ~ $100\mu\text{g}/\text{g}$ 量となるように含有させれば良い。外用剤の場合、より好ましくは $1\mu\text{g}/\text{g}$ ~ $20\mu\text{g}/\text{g}$ である。例えば、クリーム剤の場合、通常、クリーム剤中の濃度として約0.00005~約0.01重量%の範囲である。そして、このような外用剤を、疾患の程度により異なるが、単純塗布等により1日2回~数回投与するかあるいは密封法により1日1回投与するのが好ましい。

【0048】かくして本発明により $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分とする新規な湿疹・皮膚炎群治療剤が提供される。

【0049】前記の従来の同疾患治療剤の課題を考慮すると、本発明の治療剤の有効成分である $1\alpha, 24(R)$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールは、表皮細胞に対する増殖抑制作用が $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールより極めて強いこと（実施例1）、皮下組織から真皮層にかけての炎症性細胞の浸潤を抑制し、また表皮層への炎症性細胞の浸潤等の抑制作用を持

続したこと等の急性期及び慢性期の炎症を抑制したこと（実施例2）、また、本発明の治療剤は、具体的に、慢性ないし慢性のアトピー性皮膚炎等の患者において優れた有効性を示しかつ格別の副作用等の認められなかったこと（実施例6~実施例12）、各種疾患に伴う痒痒症等も含め本発明の湿疹・皮膚炎群に有効であることを示す肥満細胞脱顆粒抑制作用が認められたこと（実施例13）等、及び、特に前記特定の組成の軟膏剤又はクリーム剤を用いる場合には、優れた有効性、安全性を有し、かつ、クリーム剤の場合には、べとつき、ギラギラ感が著しく低減化されたという使用感にも優れた効果が得られた等、かかる治療剤が提供されたことによる治療上の意義は極めて大きい。

【0050】

【実施例】以下に実施例により、本発明の効果をより詳細に説明するが、本発明をこれにより限定するものではない。

【0051】なお、以下の実施例において $1\alpha, 24$

(R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールを例えば $1\alpha, 24(R) - (OH)_2 D_3$ 、 $1\alpha, 24 D_3$ 、 $1, 24 D_3$ と、 $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシコレカルシフェロールを例えば $1, 25 - (OH)_2 D_3$ 等と略記することがある。

【0052】〔実施例1〕

$1\alpha, 24(R) - (OH)_2 D_3$ の細胞増殖抑制作用（TPAにより惹起されるヘアレス・マウス表皮の増殖亢進に対する作用… $1, 25 - (OH)_2 D_3$ との比較試験）ヘアレス・マウス（SKH-1, ♀, 7~8 weeks old; Cr1）頸背部皮膚にTPA（12-O-Tetradecanoyl phorbol-13-acetate; Wako）を塗布して表皮細胞の増殖を亢進させ、これに対する $1\alpha, 24(R) - (OH)_2 D_3$ の作用を、ODC活性及びDNA合成を指標として、 $1, 25 - (OH)_2 D_3$ と比較検討した。

【0053】①TPA投与方法： $100\text{nmol}/\text{ml}$ のアセトン溶液としたTPAを、エーテル麻酔下で固定したヘアレス・マウスの頸背部皮膚 $2 \times 3\text{cm}^2$ に、 $100\mu\text{l}$ 塗布した。

【0054】②被検物質投与方法：所定の濃度のアセトン溶液とした被検物質を、エーテル麻酔下で固定したヘアレス・マウスの頸背部皮膚 $2 \times 3\text{cm}^2$ に、TPA塗布直後に $100\mu\text{l}$ 塗布した。

【0055】③ODC活性測定

1) 群構成

1. TPA (-)
2. TPA (+) / $1\alpha, 24(R) - (OH)_2 D_3$ (-)
3. TPA (+) / $1\alpha, 24(R) - (OH)_2 D_3$
 $1.0\mu\text{g}/\text{head}$
4. TPA (+) / $1, 25 - (OH)_2 D_3$
 $1.0\mu\text{g}/\text{head}$

各群5～6例で実施。

II) 活性測定方法

塗布4時間後にマウスを頸椎脱臼死させ、塗布部位の皮膚を切り取った。得られた皮膚を55℃で30秒加温後、メスで表皮を剥離した。表皮を氷冷下で50mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.2)、0.1mMピリドキサルリン酸、0.1mMエチレンジアミン四酢酸を含む抽出液0.5ml中でソニケーションし、300,000g×20分、4℃の条件で遠心した。この遠心上清をODC活性測定の酵素液とし、Chida, K: 等の方法1)に従って測定した。タンパク量はプロテイン・アッセイ(バイオラド社)を用いて行った。

【0056】酵素活性は、mgタンパク質当たり1時間に生成する $^{14}\text{C}-\text{CO}_2$ nmol量として表記した。

(nmol CO_2 / hr / mg-protein)

【0057】④DNA合成測定

1) 群構成

1. TPA (-)
2. TPA (+) / $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ (-)
3. TPA (+) / $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 10 $\mu\text{g}/\text{head}$
4. TPA (+) / $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 10 $\mu\text{g}/\text{head}$

各群4～5例で実施。

II) 測定方法

TPAは初回のみ、 $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、およびベークルであるアセトンは、TPA塗布直後、及び10時間間隔で2回(合計3回)塗布した。TPA塗布後23時間目で $3\text{H}-\text{チミジン}$ (740kBq/head)を腹腔内投与した。更に1時間後(TPA塗布後24時間後)、マウスを頸椎脱臼死させ、塗布部位の皮膚を切り取った。得られた皮膚を55℃で30秒加温後、メスで表皮を剥離した。表皮を氷冷下2mlの0.2N過塩素酸で2回、2mlのエタノール/エーテル(1/1)で1回洗った後、0.5N過塩素酸を1ml加え90℃で10分間DNAを抽出した。DNA溶液の一部を取り、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。パートン法によりDNA量を定量し、単位DNA量中の放射能($3\text{H}-\text{チミジン}(\text{Thy})$)取込み量(dpm/ $\mu\text{g}-\text{DNA}$)を算出した。

【0058】⑤結果

1) TPA塗布により惹起される表皮ODC活性の誘導に対する $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用(図1)

図1から、表皮ODC活性はTPA塗布によりアセトン塗布群の約15倍に誘導されたが、この誘導を $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ は塗布量0.1 $\mu\text{g}/\text{head}$ 以上で抑制したことが判る。塗布量1.0 $\mu\text{g}/\text{head}$

adにおいて $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ はODC活性をTPA単独塗布群の27%に抑制し、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の54%よりも強い抑制作用を示した。

【0059】II) TPA塗布による表皮DNA合成の亢進に対する $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用(図2)

図2から、表皮細胞のDNA合成はTPA塗布によりアセトン塗布群の約2倍に亢進されたが、この亢進を $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ は塗布量10 $\mu\text{g}/\text{head}$ で有意に抑制したことが判る。この用量において $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ はDNA合成をTPA単独塗布群の58%に抑制し、その抑制強度は同じ用量の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の62%より強力であった。

【0060】以上 $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ は、TPAにより惹起されるヘアレス・マウス表皮の増殖亢進、即ち、ODC活性の誘導、並びにDNA合成の亢進を、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ より強力に抑制することが明らかとなった。

【0061】なお：本実施例における参考文献は以下のものである。

1) Chida K et al. Inhibition of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D₃ of induction of epidermal ornithine decarboxylase caused by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and teleocidene B₁, Cancer Res., 44:1378-1391, (1984)

【0062】[実施例2]

$1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の抗炎症作用を示す薬理実験

ヘアレス・マウス(SKH-1, ♀, 7～8weeks old; Cr1)頸背部皮膚にTPA(12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate; Wako)を塗布し、塗布部位皮膚に惹起される種々の炎症性変化に対する $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 作用を病理組織学的に評価した。

【0063】①TPA投与方法：100nmol/mlのアセトン溶液としたTPAを、エーテル麻酔下で固定したヘアレス・マウスの頸背部皮膚 $2\times 3\text{cm}^2$ に、100 μl 塗布した。

【0064】② $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与方法：1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアセトン溶液とした $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を、エーテル麻酔下で固定したヘアレス・マウスの頸背部皮膚 $2\times 3\text{cm}^2$ に、TPA塗布直後に100 μl 塗布した。

【0065】③群構成

- 1) TPA (-)
- 2) TPA (+) / $1\alpha, 24(\text{R})-(\text{OH})_2\text{D}_3$ (-)

塗布後3, 5, 7, 9, 24, 72時間後

3) TPA (+) / 1 α , 24 (R) - (OH)₂ D₃ (+)

塗布後 3, 5, 7, 9, 24, 72 時間後
各ポイント 3 例実施した。

【0066】④抗炎症効果の評価項目

- ・潰瘍
- ・びらん
- ・表皮層の菲薄化
- ・表皮細胞の萎縮・壊死・変性
- ・炎症性細胞の浸潤 (表皮・真皮)

⑤上記項目の評価方法

Hematoxylin-Eosin 染色を施した組織切片を顕微鏡下で観察し、上記の項目について 以下に示した基準によるスコア付けを行った。

【0067】- ; 変化なし

± ; 軽微

+

++ ; 中等度

+++ ; 高度

⑥結果

【0068】

【表1】

1) TPA (-) 群

	TPA (-) / 1, 24 (OH) ₂ D ₃ (-)				
	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	3	0	0	0	0
表皮の壊死	3	0	0	0	0
表皮の変性	3	0	0	0	0
表皮細胞浸潤	3	0	0	0	0
細胞浸潤	1	2	0	0	0

【0069】

【表2】

2) TPA (+)

塗布後 3 時間

	TPA (+) / 1, 24 (OH) ₂ D ₃ (-)					TPA (+) / 1, 24 (OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の壊死	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	0	3	0	0	0	2	1	0	0	0
表皮細胞浸潤	1	2	0	0	0	3	0	0	0	0
細胞浸潤	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0

【0070】

【表3】

塗布後 5 時間

	TPA (+) / 1, 24 (OH) ₂ D ₃ (-)					TPA (+) / 1, 24 (OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の壊死	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	0	2	1	0	0	0	1	2	0	0
表皮細胞浸潤	0	3	0	0	0	2	1	0	0	0
細胞浸潤	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0

【0071】

【表4】

塗布後7時間

	TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (-)					TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の壊死	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
表皮細胞浸潤	0	3	0	0	0	2	1	0	0	0
細胞浸潤	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0

【0072】

【表5】

塗布後8時間

	TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (-)					TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	2	1	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の壊死	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0
表皮細胞浸潤	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0
細胞浸潤	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0

【0073】

【表6】

塗布後24時間

	TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (-)					TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
びらん	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	0	0	3	0	0	2	1	0	0	0
表皮の萎縮	0	0	3	0	0	2	1	0	0	0
表皮の壊死	0	1	2	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	0	0	1	2	0	0	0	3	0	0
表皮細胞浸潤	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
細胞浸潤	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0

【0074】

【表7】

塗布後72時間

	TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (-)					TPA(+)/1,24(OH) ₂ D ₃ (+)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
潰瘍	2	0	1	0	0	3	0	0	0	0
びらん	2	0	1	0	0	3	0	0	0	0
表皮の菲薄化	1	2	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の萎縮	1	2	0	0	0	3	0	0	0	0
表皮の壊死	2	0	1	0	0	3	0	0	0	0
表皮の変性	1	2	0	0	0	1	2	0	0	0
表皮細胞浸潤	2	0	1	0	0	3	0	0	0	0
細胞浸潤	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0

【0075】 上記結果から、以下のことが明らかである。

【0076】 TPAの塗布により、皮下組織から真皮層

にかけての炎症性細胞の浸潤、表皮層への炎症性細胞の浸潤および表皮細胞の萎縮・壊死・変性、表皮層の菲薄化は経時的にその重篤度を増し、塗布後24時間目に最

大となった。さらに塗布後24時間目には、びらん及び潰瘍も認められた。これらの変化は、塗布後72時間目には減弱あるいは消失した。

【0077】TPAの塗布により惹起されるこれらの変化に対して、 $1, 24 (OH)_2 D_3$ を塗布することにより、以下の効果が認められた。

【0078】1. TPA塗布後5時間目で、皮下組織から真皮層にかけての炎症性細胞の浸潤を抑制した。（急性期の炎症抑制）

2. TPA塗布後の変化が最も激しい24時間目では、表皮層への炎症性細胞の浸潤、表皮細胞の萎縮・壊死・変性、表皮層の菲薄化、びらん及び潰瘍の程度あるいは出現頻度が低減した。皮下組織から真皮層にかけての炎症性細胞浸潤については明らかな効果を認めなかった。

【0079】3. 表皮層への炎症性細胞の浸潤、表皮細胞の萎縮・壊死、表皮層の菲薄化、びらん及び潰瘍の程度あるいは出現頻度に対しては、塗布後72時間目においてもその効果が持続していた。（慢性期の炎症抑制）

【0080】【実施例3】

$1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤の調製

$1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール 0.2mg をアジピン酸ジイソプロピル 0.5g に溶解し、この溶液を50℃に加温した白色ワセリン99.5

g中に攪拌しつつ混合して、均一な組成物とし、放冷して無水性の軟膏剤（ $1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール濃度 $2\mu g/g$ ）を得た。同様にして $1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール 0.5mg を用いて $5\mu g/g$ の軟膏も得た。

【0081】【実施例4】

$1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤の調製

$1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール 0.5mg をアジピン酸ジイソプロピル 1.5g に溶解し、この溶液を50℃に加温した白色ワセリン99.5g中に攪拌しつつ混合して、均一な組成物とし、放冷して無水性の軟膏剤（ $1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール濃度 $15\mu g/g$ ）を得た。

【0082】【実施例5】下記表8に記載の各成分2～9、11及び13をとり混合し80℃に加熱して溶液とし、そこへ成分1を添加して均一な溶液（溶液A）とした。一方、成分16に10、12、14、15を添加して製した溶液（溶液B）を80℃に加熱した。真空乳化機（みずほ製）内で溶液Aと溶液Bとを混合して均一な乳化組成物とした後、室温まで冷却して白色のクリーム（実施例5）を得た。

【0083】

【表8】

主 薬	1 $1\alpha, 24 - (OH)_2 - V, D_3$	0.0002重量部
固 形 油 分	2 白色ワセリン	10重量部
	3 セチルアルコール	1重量部
	4 ステアリルアルコール	9重量部
液 状 油 分	5 スクワラン	5重量部
	6 アジピン酸ジイソプロピル	1重量部
界面活性剤	7 ポリオキシエチレン酸化ヒマシ油	0.8重量部
	8 ポリオキシエチレンセチルエーテル	2.4重量部
	9 グリセリンモノステアレート	0.8重量部
保 湿 剤	10 プロピレングリコール	10重量部
抗 酸 化 剤	11 DL- α -トコフェロール	0.02重量部
防 腐 剤	12 ヒドロキシ安息香酸メチル	0.1重量部
	13 ヒドロキシ安息香酸プロピル	0.1重量部
緩 衝 剤	14 リン酸水素2ナトリウム	適量 (pH=7.2)
	15 リン酸2水素ナトリウム	
	16 水	適量
計		100重量部

【0084】【実施例6】アトピー性皮膚炎の患者（19才、男性 罹病期間4年）の顔面に実施例3の $1\alpha, 24 (R)$ - ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤（ $5\mu g/g$ ）を2g/回、2回/日で投与した結果を

表9に記載する。

【0085】

【表9】

観 察 日		投 与 前	投与2週間後	投与4週間後
皮膚所見	そ う 痒	中 等 度	軽 度	な し
	紅 斑	中 等 度	軽 度	な し
	丘 疹	高 度	軽 度	な し
	浸潤・肥厚	高 度	軽 度	な し
皮膚重症度		中 等 度	軽 度	治 癒

【0086】皮膚所見及び総合判定の皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。なお、投与前後において血清カルシウム、リンなど臨床検査への影響はなかった。

【0087】〔実施例7〕慢性湿疹の患者（17才、女性 罹病期間15年）の全身に実施例4の1α, 24

（R）ージヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤（15μg/g）を10g/2回、2回/日、単純塗布で投与した結果を表10に記載する。

【0088】

【表10】

観 察 日		投 与 前	投与2週間後	投与4週間後
皮膚所見	そ う 痒	高 度	中 等 度	軽 微
	紅 斑	中 等 度	中 等 度	軽 微
	丘 疹	中 等 度	軽 度	な し
	浸潤・肥厚	高 度	軽 度	な し
皮膚重症度		高 度	中 等 度	軽 微

【0089】皮膚所見及び総合判定の皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。なお、投与前後において血清カルシウム、リンなど臨床検査への影響はなかった。

【0090】〔実施例8〕アトピー性皮膚炎性痒疹の患者に実施例3の1α, 24（R）ージヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤（2μg/g）を投与した結果を以下に記載する。

【0091】28才、女性 罹病期間20年

投与部位 上、下肢

投与方法 2g/回、2回/日

【0092】

【表11】

観 察 日		投与前	投与2週間後	投与3週間後
皮膚所見	そう痒	高 度	軽 度	軽 微
	びらん・痂皮	中 等 度	な し	な し
	結 節	中 等 度	軽 微	軽 微

【0093】皮膚所見及び総合判定の皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。なお、投与前後において血清カルシウム、リンなど臨床検査値への影響はなかった。

【0094】〔実施例9〕結節性痒疹の患者に実施例3の1α, 24（R）ージヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤（2μg/g）を投与した結果を以下に記載する。

【0095】29才、男性 罹病期間3年

投与部位 上肢

投与方法 1g/回、2回/日、単純塗布

【0096】

【表12】

観 察 日		投与前	投与2週間後	投与4週間後	投与6週間後
皮膚所見	そう痒	中等度	軽 度	軽 微	な し
	びらん・痂皮	中等度	軽 微	軽 微	な し
	結 節	高 度	軽 度	軽 微	な し

【0097】皮膚所見及び総合判定の皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。なお、投与前後において血清カルシウム、リンなど臨床検査値への影響はなかった。

【0098】〔実施例10〕亜急性性痒疹の患者に実施例3の1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤 (2 μ g/g) を投与した結果を以下に記載

する。

【0099】58才、男性 罹病期間5カ月

投与部位 上、下肢、躯幹

投与方法 1g/回、2回/日、単純塗布

【0100】

【表13】

観 察 日		投与前	投与2週間後	投与6週間後	投与8週間後
皮膚所見	そう痒	高 度	中等度	軽 微	な し
	びらん・痂皮	軽 度	軽 微	軽 微	な し
	結 節	中等度	軽 度	軽 微	軽 微

【0101】皮膚所見及び総合判定の皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。なお、投与前後において血清カルシウム、リンなど臨床検査値への影響はなかった。

【0102】〔実施例11〕脂漏性皮膚炎の患者に実施例3の1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤 (2 μ g/g) を投与した結果を以下に記

載する。

【0103】54才、男性

投与部位 顔面

投与方法 2g/回、2回/日

【0104】

【表14】

観 察 日		投与前	投与5日後	投与10日後	投与20日後
皮膚所見	紅 斑	高 度	軽 度	軽 微	な し
	鱗せつ	高 度	軽 度	軽 微	な し
皮膚重症度		高 度	軽 度	軽 微	な し

【0105】〔実施例12〕脂漏性皮膚炎の患者に実施例3の1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロール軟膏剤 (2 μ g/g) を投与した結果を以下に記載する。

【0106】83才、女性

投与部位 顔面

投与方法 2g/回、2回/日

【0107】

【表15】

観 察 日		投与前	投与2週間後	投与4週間後
皮膚所見	紅 斑	高 度	軽 度	軽 微
	鱗せつ	高 度	軽 度	軽 微
皮膚重症度		高 度	軽 度	軽 微

【0108】なお、表14及び表15において皮膚所見、皮膚重症度の判定区分は高度、中等度、軽度、軽微、なしの5区分とした。また実施例11及び実施例1

2のいずれの場合も、投与前後において血清カルシウム、リンなどの臨床検査値への影響はなかった。

【0109】なお、本患者に、実施例5のクリーム剤を用いた場合にも、軟膏剤の場合と同様の治療効果が得られ、副作用も格別なく、かつ、使用感も優れていた。

【0110】〔実施例13〕1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールの抗炎症作用、止痒作用を示唆する肥満細胞脱顆粒抑制作用 (TPAにより惹起される肥満細胞の脱顆粒亢進に対する作用)

ヘアレスマウス (SKH-1, ♀, 8weeks old; Crl) 背部皮膚にTPA (12-O-Tetradecanoyl phorbol-13-acetate; Walco) を塗布して真皮における肥満細胞の脱顆粒を亢進させ、これに対する1 α , 24 (R) -ジヒドロキシコレカルシフェロールの作用を脱顆粒の程度毎の細胞数の割合で評価した。

【0111】①TPA投与方法: 100nmol/100 μ lのアセトン溶液としたTPAをヘアレス・マウスの背部皮膚2 \times 3cm²に、100 μ l塗布した。

【0112】②被験物質投与方法：100ng/100μlのアセトン溶液とした1α, 24(R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールをヘアレス・マウスの背部皮膚2×3cm²に、TPA塗布直後に100μl塗布した。

【0113】③組織切片作製方法

塗布24時間後にヘアレス・マウス背部塗布部位を採取し、ホルマリン緩衝液で固定後、パラフィン包埋し、厚さ約3μmで切片を作製した。この切片を脱パラフィン処理後、ギムザ染色液にて染色し、水洗後アルコール/キシレンにて透徹し封入して試料とした。

【0114】④肥満細胞の脱顆粒評価方法

1固体より1組織切片（各群3切片）を作製し、1切片より無作為に7部位（1群計21部位）を決めて6mm幅で垂直方法にスキャンして計数した。肥満細胞は計数部位における総数及びその中の脱顆粒している数を数え

た。また、脱顆粒した肥満細胞の中で50%以上の顆粒が脱顆粒した肥満細胞を高度脱顆粒(Extensive)、10～50%の顆粒が脱顆粒した肥満細胞を中等度脱顆粒(Moderate)と評価した。また、これら以外は脱顆粒しないものとした。

【0115】⑤結果

無処置群、対照群〔TPA(+), 1α, 24(R)-(OH)₂D₃(-)〕、試験群〔TPA(+), 1α, 24(R)-(OH)₂D₃(+)〕の3群について、肥満細胞中の高度脱顆粒したもの、中等度脱顆粒したもの、及び、脱顆粒しなかったものの割合(%)を表16に記載した。なお、肥満細胞の総数は3群の間で大きな差はなかった。

【0116】

【表16】

(%) (n=21)

	脱顆粒せず	中等度脱顆粒 (Moderate)	高度脱顆粒 (Extensive)
無処置群 (TPA(-), 1α, 24(R)-(OH) ₂ D ₃ (-))	55	40	5
対照群 (TPA(+), 1α, 24(R)-(OH) ₂ D ₃ (-))	10	30	60
試験群 (TPA(+), 1α, 24(R)-(OH) ₂ D ₃ (+))	45	38	17

【0117】TPA塗布により肥満細胞の脱顆粒が亢進し、特に50%以上脱顆粒した群が増加した。これに対し1α, 24(R)-(OH)₂D₃を投与することにより脱顆粒した肥満細胞の割合が低下し、特に50%以上脱顆粒した群が有意に減少した。この結果は、著しく脱顆粒した肥満細胞がケミカルメディエーターの放出により炎症をひき起こすことを考慮すると、1α, 24(R)-ジヒドロキシコレカルシフェロールの抗炎症作用、止痒作用等を示唆するものであり、本発明の治療剤が湿疹・皮膚炎群、アトピー性皮膚炎、痒疹型アトピー

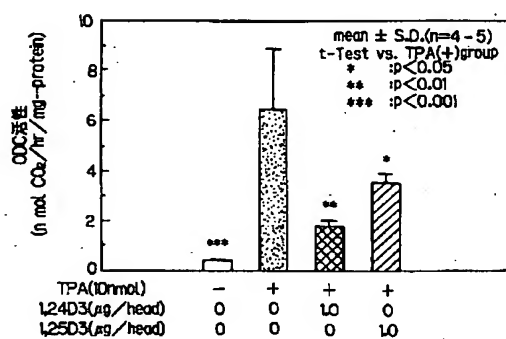
性皮膚炎、急性・慢性湿疹、脂漏性皮膚炎、痒疹、アトピー性皮膚炎性痒疹、及び各種疾患に伴う痒疹等に有効であることを薬理的に支持するものである。

【図面の簡単な説明】

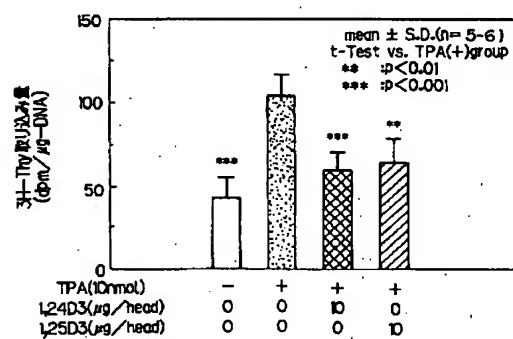
【図1】図1は、実施例1における1α, 24(R)-(OH)₂D₃の細胞増殖抑制作用のうちODC活性を指標として測定した結果を示す。

【図2】図2は、実施例1における1α, 24(R)-(OH)₂D₃の細胞増殖抑制作用のうちDNA合成を指標として測定した結果を示す。

【図 1】



【図 2】



フロントページの続き

(72)発明者 只木 行啓

宮城県名取市那智が丘 3-10-7

(72)発明者 片山 一朗

千葉県船橋市西習志野 2-26-10